壳聚糖抗微生物活性的影响因素及其作用机制

孙铭维[1]　童津津[1]　蒋林树[1*]　熊本海[2]
(1.北京农学院动物科学技术学院，奶牛营养学北京市重点实验室，北京　102206；2.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所，北京　100193)

摘　要：壳聚糖是几丁质的脱乙酰化形式，是一种可从甲壳纲、昆虫和真菌中获得的生物聚合物，具有良好的物理化学特性以及众多的生物活性，并显示出对不同真菌、革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌的抗菌活性。壳聚糖与微生物表面阴离子之间的静电相互作用是决定壳聚糖抗真菌和细菌微生物活性的重要因素，但是受微生物类型、壳聚糖的分子量和脱乙酰度等影响。根据抗真菌和细菌的特性，将壳聚糖通过饲料添加剂或凝胶注射等方式用于动物生产，在提高动物生产性能和免疫性能以及在疾病治疗等方面都有很大应用潜力。本文主要综述了壳聚糖最新的抗微生物活性作用机制和影响因素，为壳聚糖在动物生产上的应用提供理论基础。

关键词：壳聚糖；抗菌活性；真菌；动物生产；作用机制

中图分类号：S816.7　　文献标识码：A　　文章编号：

随着绿色生物聚合物的使用越来越多，壳聚糖越来越受到广泛关注。壳聚糖由甲壳素获得，而甲壳素是天然大分子中最丰富的多糖，是一种可从甲壳纲、真菌[1]和昆虫[2]中提取的生物聚合物。壳聚糖通过用30%~60％氢氧化钠将甲壳素脱乙酰化获得[3]，具有良好的吸附性、吸湿性、成膜性、通透性以及较好的生物相容性、生物降解性和低过敏等特性[4]，还具有抗微生物[5]、抗肿瘤和降胆固醇血症等功能[6]。其中，壳聚糖由于良好的抗菌作用在畜牧业尤其是在反刍动物瘤胃发酵、免疫以及疾病预防和治疗方面有很大的应用潜力。本文基于最新研究结果重点讨论了壳聚糖的生物活性、作用方式及其影响因素，为壳聚糖在反刍动物上的研究与应用提供理论基础。

收稿日期：2018–04–27

基金项目：“十三五”国家重大科技专项（2016YFD0700201，2016YFD0700205，2017YFD0701604）；北京市现代农业产业技术体系奶牛创新团队；国家自然科学基金（31772629；31702302）；2015年大北农青年教师科研基金；2016年北京农学院青年教师科研基金；2017年北京市教委科技计划项目（SQKM201710020011）；北京市博士后基金

作者简介：孙铭维（1994—），男，河北定州人，硕士研究生，研究方向为奶牛营养与免疫。E-mail: 809398284@qq.com

*通信作者：蒋林树，教授，博士生导师，E-mail:　kjxnb@vip.sina.com

1　壳聚糖的结构特性和生物活性

1.1　结构特性

壳聚糖是甲壳素的脱乙酰产物，有甲壳素脱去 C—2 上的乙酰基而得到，学名为(1,4)–2–氨基－2–脱氧－β–*D*–葡聚糖。通常，甲壳素的脱乙酰度达到 55%即可称为壳聚糖。所以壳聚糖是 N–脱乙酰化形式的甲壳素和具有不同程度 N–乙酰化的线性多糖，其由低于 20％的β–(1,4)–2–乙酰氨基－*D*–吡喃葡萄糖和超过 80％的β–(1,4)–2–氨基－*D*–吡喃葡萄糖组成，是 *D*–葡糖胺和 *N*–乙酰－*D*–葡糖胺单元的无规共聚物。壳聚糖这 2 种单体单元之间的比例（脱乙酰化程度）和分子量在壳聚糖的抗微生物活性和在水性介质中的溶解度中起着重要作用[7]。壳聚糖含有 3 种类型的反应性官能团，分别为 C—2、C—3 和 C—6 位上的氨基/乙酰氨基以及伯羟基和仲羟基。氨基含量是其结构和理化性质之间差异的主要原因，并与其螯合、絮凝和生物功能有关[8]。壳聚糖，尤其是高分子量的壳聚糖在稀酸溶液中不溶于水且黏度很高，因此限制了其在生物领域的应用。而通过改性壳聚糖，即合成壳聚糖衍生物是影响其溶解度和抗微生物活性的重要方法之一。由于 *D*–氨基葡萄糖的伯氨基、伯醇功能及其反应性的差异，我们可以直接制造多种不同的壳聚糖衍生物，进而改善壳聚糖的溶解性和增强抗微生物活性的功能。

1.2　生物活性

壳聚糖由于具有良好的生物活性引起了人们的广泛关注，并且在食品、制药、农业和环境工业众多领域应用：包括用于农用化学品[9]、植物防御反应激活剂[10]、废水处理中的絮凝剂[11]、壳聚糖基水净化膜[12]、食品包装或食品保鲜[13]、药物乳化剂[14]和伤口敷料[15]。

最近的研究显示壳聚糖具有抗微生物[16]、天然抗氧化[17]、抗炎和抗菌[18]、降胆固醇血症[19]、免疫增强和抗肿瘤[6]、药物传递[20]以及加速钙和铁吸收[21]等作用。虽然对壳聚糖生物活性的研究众多，但并没有单一类型的壳聚糖发挥上述所有生物活性，因此对壳聚糖生物活性的研究正在增加。此外，不同的壳聚糖衍生物和酶产物具有不同的结构和物理化学性质，这可能导致已知生物活性化合物的新的生物活性或新的发现。

2　壳聚糖的作用方式

由于壳聚糖的作用方式受到不同因素的影响[22]，很难明确抗菌活性背后的具体机制。研究表明，影响壳聚糖作用方式最重要的因素是微生物类型[23-24]、分子量[22, 24]和脱乙酰度。微生物类型大致可以分为 4 类：革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌、壳聚糖敏感性真菌和壳聚糖抗性真菌[23]。众多研究表明壳聚糖在真菌或细菌的细胞表面发挥作用，最终导致膜的通透性发生改变[25]。这种相互作用主要是静电作用[23, 26]，并且发生于壳聚糖质子化氨基产生的

正电荷与细胞表面带负电的分子之间。通常，细胞表面通透性改变导致细胞内物质的泄漏，进而导致细胞死亡[27]。研究表明壳聚糖也可以通过与核酸结合而影响 DNA 表达[24, 28]。然而，在壳聚糖可以触发这些特定的细胞内反应之前，它必须穿透质膜，这很大程度上取决于微生物的种类和分子量。

2.1　对真菌的作用方式

与革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌相反，壳聚糖敏感性和抗性真菌作用方式之间的差异不明显。首先，壳聚糖通过与带负电荷的磷脂电荷相互作用影响细胞膜[23]。一旦细胞膜被破坏，壳聚糖就能够进入细胞[23]，进而会导致 DNA 或 RNA 合成抑制并且中断蛋白质合成[28]。Palma-Guerrero 等[23]用壳聚糖处理壳聚糖敏感性真菌观察到细胞膜的破坏，细胞内物质的泄漏以及壳聚糖渗透到细胞膜中。然而，对于抗壳聚糖的真菌，似乎壳聚糖不能穿过细胞膜并保留在膜外表面，这与壳聚糖敏感性真菌相反。壳聚糖不能破坏壳聚糖抗性真菌细胞膜的原因是由于细胞膜的流动性存在差异。对壳聚糖敏感性和抗性真菌细胞膜磷脂脂肪酸组成的研究表明，壳聚糖活性的增加与细胞膜中不饱和脂肪酸含量增加有关；通过测试壳聚糖在减少不饱和脂肪酸含量的情况下对粗糙脉孢菌突变体的抗微生物活性，结果表明壳聚糖对野生型粗糙脉孢菌的抗微生物活性降低[23]。这表明膜流动性影响了壳聚糖的活性，而且作用方式在很大程度上取决于真菌本身。

显然，壳聚糖敏感性和抗性真菌属于不同的真菌家族[23]。分类方法基于脂肪酸组成，并且已被证明是用于分类真菌的有力工具[29]。这表明该分类可用于预测或解释壳聚糖的抗真菌活性。同一研究小组还表明，壳聚糖敏感性真菌对壳聚糖的吸收是 ATP 依赖性的[30]。这可以通过监测 4 ℃或叠氮化物存在下的壳聚糖吸收来证明，2 种处理均抑制 ATP 产生，并且在 2 种情况下壳聚糖都不能通过质膜。在室温和没有叠氮化物的情况下，在不到 30 min 内可观察到壳聚糖吸收[28]。这表明壳聚糖吸收不仅与扩散有关，而且还与 ATP 密切相关。一旦壳聚糖进入细胞内，它就会影响 DNA 或 RNA 合成以及蛋白质合成[28]。

2.2　对革兰氏阳性菌的作用方式

对于革兰氏阳性细菌，壳聚糖与磷壁酸非共价结合在肽聚糖层[31]。细胞表面的这些磷壁酸对革兰氏阳性细菌的细胞分裂和生理学其他方面发挥重要作用[32]，但壳聚糖对细胞膜本身的影响仍不确定。一些研究小组认为壳聚糖不太可能影响细胞膜，因为壳聚糖的流体动力学直径大于肽聚糖结构中预期的孔径[31]。然而，Park 等[24]发现分子量小于 5 ku 的壳聚糖样品通过阻断 DNA 的合成而在巨大芽孢杆菌（*Bacillus megaterium*）中诱导凋亡。这表明分子量是影响壳聚糖通过细胞膜的作用模式和渗透性的重要因素。通过测试缺少一种或多种涉

及磷壁酸生物合成的基因的金黄色葡萄球菌突变体，表明了磷壁酸对壳聚糖活性的重要性。与野生型相比，金黄色葡萄球菌的突变种更具抗性，这表明需要聚阴离子磷壁酸来提高壳聚糖对革兰氏阳性菌的抗菌活性[31]。磷壁酸的功能大致可分为三大类：保护环境胁迫、控制细胞膜中酶活性和阳离子浓度以及与受体和细胞表面的结合[33]。值得注意的是，壳聚糖与这些磷壁酸的静电相互作用可能破坏磷壁酸的功能，并且这可能导致细胞功能的破坏[34]。由于这些阴离子磷壁酸的存在，其他阳离子杀菌剂也表现出对革兰氏阳性细菌的抗菌活性。从这些结果可以说明，壳聚糖主要的作用方式与磷壁酸的静电相互作用有关，这种静电作用可以破坏细胞的多种功能从而导致细胞死亡。

2.3　对革兰氏阴性菌的作用方式

对于革兰氏阴性菌，有 2 种被认为在外膜上发挥活性的机制：一种是当 pH 高于酸度系数（p*K*a）时，壳聚糖与不同阳离子的螯合作用相关[35]，这可能导致细胞壁完整性被破坏并干扰重要营养素（钙离子、镁离子等）的吸收[22]；另一种是壳聚糖与外膜脂多糖阴离子部分的静电相互作用[36]。但关于哪种机制占主导地位仍不确定。最近的研究表明，壳聚糖干扰了内膜功能[36-37]，导致细胞内物质外漏[37]。此外，已观察到壳聚糖能够穿过革兰氏阴性细菌的细胞膜[24, 37]，表明壳聚糖可能干扰 DNA 或 RNA 合成并触发细胞的胞内反应。

总之，阴离子细胞表面和壳聚糖之间的静电相互作用是决定壳聚糖抗真菌和细菌抗微生物活性的重要因素。这反映在随着脱乙酰度的增加，抗菌活性提高，且甲壳素的抗菌活性较低[38]。由于含有质子化的氨基，壳聚糖（p*K*a 为 6.3~6.5）在低 pH 下具有最好的抗微生物特性。这也解释了为什么季铵化壳聚糖衍生物通常比壳聚糖更有效[39]。尽管静电相互作用非常重要，壳聚糖也能够与胆固醇非共价结合[26]。这表明其他非共价相互作用也可能在抗微生物活性中发挥作用。

3　影响壳聚糖抗微生物活性的因素

壳聚糖可以用作针对不同类型的真菌和细菌的抗菌剂。然而，壳聚糖的活性和作用方式受到很多因素的影响。一般来说，壳聚糖主要在细胞表面有活性。根据微生物类型和分子量的不同，可能会引发其他抗微生物活性，如抑制 DNA 或 RNA 合成或破坏蛋白质合成。

3.1　抗真菌

在最近的研究中，测试了具有相似脱乙酰度的不同分子量壳聚糖对 3 种真菌的作用效果，结果表明低分子量壳聚糖（分子量 41.2 ku）似乎是最有效的，但针对不同的真菌相同分子量展现了不同的作用效果[40]。这表明，壳聚糖作用方式很大程度上取决于真菌。另一项研究报道，低分子量壳聚糖（分子量 17.4 ku）对匍匐茎的菌丝体生长更有效，但另一方面，

高分子量壳聚糖（分子量 307 ku）对匍匐翦股颖的孢子发育更有效[41]。

除了分子量之外，脱乙酰度是抗真菌活性的关键因素。不同的研究表明，增加脱乙酰度会导致抗真菌活性增加[42]。一般而言，当脱乙酰度较高且分子量较低时，抗真菌活性增加。这在对白色念珠菌测试不同分子量和脱乙酰度的壳聚糖样品抗菌活性的研究中得到证实[42]。壳聚糖与带负电的磷脂之间的静电相互作用是作用模式的重要因素，而增加脱乙酰度会导致游离氨基更多，从而使聚合物上有更多的正电荷，导致静电相互作用增强。然而，与分子量相似，脱乙酰度的程度仍然取决于真菌的类型，这在 Younes 等[43]通过测试分子量和脱乙酰度对 3 种真菌的影响试验中得到证明。

3.2　抗革兰氏阳性菌

与抗真菌活性相似，壳聚糖抗菌活性在很大程度上取决于分子量、乙酰化程度、环境影响和细菌类型[44-45]。一般而言，壳寡糖与壳聚糖相比对细菌具有较低的抗菌活性，而壳聚糖的作用很大程度上取决于细菌类型[46]。与壳寡糖相比，较长的链（壳聚糖）被证明是更有效的，如果将壳聚糖不同分子量之间进行比较，中高分子量壳聚糖活性似乎是更好的，这表明理想的链长很大程度上取决于细菌的类型[47]。

分子量和乙酰化程度对蜡样芽孢杆菌 3 种菌株生长的影响研究表明具有高度去乙酰作用的低分子量壳聚糖（分子量 36~93.3 ku）更有效[48]。脱乙酰度与壳聚糖和革兰氏阳性细菌的磷壁酸之间的静电相互作用有关。因此，如果脱乙酰度增加，则抗菌活性增加，此结果在蜡状芽孢杆菌[49]、单核细胞增生李斯特菌[45, 49]、金黄色葡萄球菌[45, 50]和无乳链球菌[45]等上面都得到了证实。这背后的原因与抗真菌活性相同，当脱乙酰度增加时，更多的游离氨基可以被质子化，导致带正电荷的壳聚糖，这种效应与较低 pH 下增加的抗微生物活性有关。

3.3　抗革兰氏阴性菌

壳聚糖对革兰氏阴性菌的抗菌活性，与革兰氏阳性菌类似，分子量的影响在很大程度上取决于细菌的类型。同壳聚糖相比，壳寡糖显示出较低的抗菌活性[44]。一项研究调查了寡壳聚糖（分子量 2、3、6、10 和 16 ku）和低分子量壳聚糖（分子量 60 ku）针对多形拟杆菌（*Bacteroides thetaiotaomicron*）和普通拟杆菌（*Bacteroides vulgatus*）的抗菌活性，结果表明，当壳寡糖样品的分子量增加时，抗菌活性增加；尽管如此，低分子量壳聚糖被证明比壳寡糖更有效[51]。Tayel 等[52]也得出相同结果，此外还发现不同分子量壳聚糖之间的差异很小，很大程度上取决于细菌，而且细胞膜的破裂是抑菌的主要作用模式。

对于壳聚糖的脱乙酰度而言，同样随着脱乙酰度增加，抗菌活性增加。这在有关革兰氏阴性细菌（大肠杆菌、粪肠球菌、产气肠杆菌、铜绿假单胞菌和副溶血性弧菌）的研究中[44]

得到证实。

4 小 结

壳聚糖是一种高度研究的多功能生物聚合物，在不同领域显示出众多优良特性。其中最有前途的是壳聚糖及其衍生物的抗微生物活性。这种抗菌作用不仅受真菌或细菌类型的影响，而且主要受脱乙酰度、分子量以及所用的衍生化和制备方法的影响。结合这些特性，将壳聚糖合理应用到动物生产上，用以提高动物生产性能，例如改变反刍动物瘤胃发酵模式，增加饲料利用率。此外，壳聚糖在动物疾病预防与治疗方面有极大的应用潜力。

参考文献：

[1] STREIT F,KOCH F,LARANJEIRA M C M,et al.Production of fungal chitosan in liquid cultivation using apple pomace as substrate[J].Brazilian Journal of Microbiology,2009,40(1):20–25.

[2] SONG C,YU H,ZHANG M,et al.Physicochemical properties and antioxidant activity of chitosan from the blowfly *Chrysomya megacephala* larvae[J].International Journal of Biological Macromolecules,2013,60:347–354.

[3] DE MOURA C M,DE MOURA J M,SOARES N M,et al.Evaluation of molar weight and deacetylation degree of chitosan during chitin deacetylation reaction:used to produce biofilm[J].Chemical Engineering and Processing:Process Intensification,2011,50(4):351–355.

[4] ANITHA A,SOWMYA S,KUMAR P T S,et al.Chitin and chitosan in selected biomedical applications[J].Progress in Polymer Science,2014,39(9):1644–1667.

[5] VERLEE A,MINCKE S,STEVENS C V.Recent developments in antibacterial and antifungal chitosan and its derivatives[J].Carbohydrate Polymers,2017,164:268–283.

[6] CHIEN R C,YEN M T,MAU J L.Antimicrobial and antitumor activities of chitosan from shiitake stipes,compared to commercial chitosan from crab shells[J].Carbohydrate Polymers,2016,138:259–264.

[7] HAMDINE M,HEUZEY M C,BÉGIN A.Effect of organic and inorganic acids on concentrated chitosan solutions and gels[J].International Journal of Biological Macromolecules,2005,37(3):134–142.

[8] XIA W S,LIU P,ZHANG J L,et al.Biological activities of chitosan and chitooligosaccharides[J].Food Hydrocolloids,2011,25(2):170–179.

[9] HADWIGER L A.Multiple effects of chitosan on plant systems:solid science or

hype[J].Plant Science,2013,208:42–49.

[10] FITZA K N E,PAYN K G,STEENKAMP E T,et al.Chitosan application improves resistance to *Fusarium circinatum* in *Pinus patula*[J].South African Journal of Botany,2013,85:70–78.

[11] GUAN W,TIAN S C.The Modified chitosan for dyeing wastewater treatment via adsorption and flocculation[J].Science of Advanced Materials,2017,9(9):1603–1609.

[12] THAKUR V K,VOICU S I.Recent advances in cellulose and chitosan based membranes for water purification:a concise review[J].Carbohydrate Polymers,2016,146:148–165.

[13] MITELUT A C,TĂNASE E E,POPA V I,et al.Sustainable alternative for food packaging:chitosan biopolymer-a review[J].Agrolife Scientific Journal,2015,4(2):52–61.

[14] CHEUNG R C F,NG T B,WONG J H,et al.Chitosan:an update on potential biomedical and pharmaceutical applications[J].Marine Drugs,2015,13(8):5156–5186.

[15] ZHONG L,GAO J T,HE Q F,et al.Enhanced antibacterial and wound healing activities of microporous chitosan-Ag/ZnO composite dressing[J].Carbohydrate Polymers,2017,156:460–469.

[16] MA Z,GARRIDO-MAESTU A,JEONG K C.Application,mode of action,and *in vivo* activity of chitosan and its micro- and nanoparticles as antimicrobial agents:a review[J].Carbohydrate Polymers,2017,176:257–265.

[17] SOUZA V G L,FERNANDO A L,PIRES J R A,et al.Physical properties of chitosan films incorporated with natural antioxidants[J].Industrial Crops and Products,2017,107:565–572.

[18] TEIXEIRA G Q,PEREIRA C L,CASTRO F,et al.Anti-inflammatory Chitosan/Poly-γ-glutamic acid nanoparticles control inflammation while remodeling extracellular matrix in degenerated intervertebral disc[J].Acta Biomaterialia,2016,42:168–179.

[19] MUZZARELLI R A A,ORLANDINI F,PACETTI D,et al.Chitosan taurocholate capacity to bind lipids and to undergo enzymatic hydrolysis:an *in vitro* model[J].Carbohydrate Polymers,2006,66(3):363–371.

[20] PARK J H,SARAVANAKUMAR G,KIM K,et al.Targeted delivery of low molecular drugs using chitosan and its derivatives[J].Advanced Drug Delivery Reviews,2010,62(1):28–41.

[21] BRAVO-OSUNA I,TEUTONICO D,ARPICCO S,et al.Characterization of chitosan

thiolation and application to thiol quantification onto nanoparticle surface[J].International Journal of Pharmaceutics,2007,340(1/2):173–181.

[22] KONG M,CHEN X G,XING K,et al.Antimicrobial properties of chitosan and mode of action:a state of the art review[J].International Journal of Food Microbiology,2010,144(1):51–63.

[23] PALMA-GUERRERO J,LOPEZ-JIMENEZ J A,PÉREZ-BERNÁ A J,et al.Membrane fluidity determines sensitivity of filamentous fungi to chitosan[J].Molecular Microbiology,2010,75(4):1021–1032.

[24] PARK S C,NAH J W,PARK Y.pH-dependent mode of antibacterial actions of low molecular weight water-soluble chitosan (LMWSC) against various pathogens[J].Macromolecular Research,2011,19(8):853–860.

[25] WANG Q,ZUO J H,WANG Q,et al.Inhibitory effect of chitosan on growth of the fungal phytopathogen,*Sclerotinia sclerotiorum*,and sclerotinia rot of carrot[J].Journal of Integrative Agriculture,2015,14(4):691–697.

[26] KRAJEWSKA B,WYDRO P,JAŃCZYK A.Probing the modes of antibacterial activity of chitosan.Effects of pH and molecular weight on chitosan interactions with membrane lipids in langmuir films[J].Biomacromolecules,2011,12(11):4144–4152.

[27] COSTA E M,SILVA S,PINA C,et al.Evaluation and insights into chitosan antimicrobial activity against anaerobic oral pathogens[J].Anaerobe,2012,18(3):305–309.

[28] MÁRQUEZ I G,AKUAKU J,CRUZ I,et al.Disruption of protein synthesis as antifungal mode of action by chitosan[J].International Journal of Food Microbiology,2013,164(1):108–112.

[29] RUESS L,HÄGGBLOM M M,ZAPATA E J G,et al.Fatty acids of fungi and nematodes--possible biomarkers in the soil food chain?[J].Soil Biology and Biochemistry,2002,34(6):745–756.

[30] PALMA-GUERRERO J,HUANG I C,JANSSON H B,et al.Chitosan permeabilizes the plasma membrane and kills cells of *Neurospora crassa* in an energy dependent manner[J].Fungal Genetics and Biology,2009,46(8):585–594.

[31] RAAFAT D,VON BARGEN K,HAAS A,et al.Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound[J].Applied and Environmental

Microbiology,2008,74(12):3764–3773.

[32] BROWN S,MARIA J P S,Jr.,WALKER S.Wall teichoic acids of gram-positive bacteria[J].Annual Review of Microbiology,2013,67(1):313–336.

[33] XIA G Q,KOHLER T,PESCHEL A.The wall teichoic acid and lipoteichoic acid polymers of *Staphylococcus aureus*[J].International Journal of Medical Microbiology,2010,300(2/3):148–154.

[34] NEUHAUS F C,BADDILEY J.A continuum of anionic charge:structures and functions of D-alanyl-teichoic acids in gram-positive bacteria[J].Microbiology and Molecular Biology Reviews,2003,67(4):686–723.

[35] WANG X H,DU Y M,FAN L H,et al.Chitosan- metal complexes as antimicrobial agent:synthesis,characterization and structure-activity study[J].Polymer Bulletin,2005,55(1/2):105–113.

[36] LIU H,DU Y M,WANG X H,et al.Chitosan kills bacteria through cell membrane damage[J].International Journal of Food Microbiology,2004,95(2):147–155.

[37] MANSILLA A Y,ALBERTENGO L,RODRÍGUEZ M S,et al.Evidence on antimicrobial properties and mode of action of a chitosan obtained from crustacean exoskeletons on *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* DC3000[J].Applied Microbiology and Biotechnology,2013,97(15):6957–6966.

[38] RAAFAT D,SAHL H G.Chitosan and its antimicrobial potential-a critical literature survey[J].Microbial Biotechnology,2010,2(2):186–201.

[39] DE SOUZA R H F V,TAKAKI M,DE OLIVEIRA PEDRO R,et al.Hydrophobic effect of amphiphilic derivatives of chitosan on the antifungal activity against *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus*[J].Molecules,2013,18(4):4437–4450.

[40] LI,K.,XING,R.,LIU,S.,QIN,Y.,MENG, X., & LI, P. Microwave-assisteddegradation of chitosan for a possible use in inhibiting crop pathogenic fungi[J].International Journal of Biological Macromolecules, 2012,51, 767–773.

[41] HERNÁNDEZ-LAUZARDO A N,BAUTISTA-BAÑOS S,VELÁZQUEZ-DEL VALLE M G,et al.Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on *in vitro* development of *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill[J].Carbohydrate Polymers,2008,73(4):541–547.

[42] HONGPATTARAKERE T,RIYAPHAN O.Effect of deacetylation conditions on antimicrobial activity of chitosans prepared from carapace of black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)[J].Songklanakarin Journal of Science & Technology,2008,30(Suppl.1):1–9.

[43] YOUNES,ISLEM,RINAUDO,et al.Chitin and chitosan preparation from marine sources.Structure,properties and applications[J].Marine Drugs,2015,13(3),1133–1174.

[44] GOY R C,MORAIS S T B,ASSIS O B G.Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on *E. coli* and *S. aureus* growth[J].Revista Brasileira de Farmacognosia,2016,26(1):122–127.

[45] LIN S B,CHEN S H,PENG K C.Preparation of antibacterial chito-oligosaccharide by altering the degree of deacetylation of β-chitosan in a *Trichoderma harzianum* chitinase-hydrolysing process[J].Journal of the Science of Food and Agriculture,2010,89(2):238–244.

[46] NO H K,PARK N Y,LEE S H,et al.Antibacterial activity of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights[J].International Journal of Food Microbiology,2002,74(1/2):65–72.

[47] NO H K,PARK N Y,LEE S H,et al.Antibacterial activities of chitosans and chitosan oligomers with different molecular weights on spoilage bacteria isolated from tofu[J].Journal of Food Science,2010,67(4):1511–1514.

[48] MELLEGÅRD H,FROM C,CHRISTENSEN B E,et al.Inhibition of *Bacillus cereus* spore outgrowth and multiplication by chitosan.[J].International Journal of Food Microbiology,2011,149(3):218–225.

[49] TSAI G J,SU W H,CHEN H C,et al.Antimicrobial activity of shrimp chitin and chitosan from different treatments and applications of fish preservation[J].Fisheries Science,2010,68(1):170–177.

[50] LI J H,WU Y G,ZHAO L Q.Antibacterial activity and mechanism of chitosan with ultra high molecular weight[J].Carbohydrate Polymers,2016,148:200–205.

[51] ŠIMŮNEK J,BRANDYSOVÁ V,KOPPOVÁ I,et al.The antimicrobial action of chitosan,low molar mass chitosan,and chitooligosaccharides on human colonic bacteria[J].Folia Microbiologica,2012,57(4):341–345.

[52] TAYEL A A,MOUSSA S,OPWIS K,et al.Inhibition of microbial pathogens by fungal

chitosan[J].International Journal of Biological Macromolecules,2010,47(1):10–14.

Factors Influencing the Antimicrobial Activity of Chitosan and Its Mechanism

SUN Mingwei[1] TONG Jinjin[1] JIANG Linshu[1*] XIONG Benhai[2]

（1. *Key Laboratory for Dairy Cow Nutrition, College of Animal Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing* 102206*, China*; 2. *Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing* 100193, *China*）

Abstract: Chitosan is the deacetylated form of chitin, a biopolymer that can be obtained from crustaceans, insects and fungi. It has good physicochemical properties and numerous biological activities, and shows antimicrobial activity against different fungi, gram positive and gram negative bacteria. Electrostatic interactions between chitosan and surface anions of microorganisms are important factors that determine the antifungal activity of chitosan and microbial activity of bacteria, but are affected by the type of microorganism, the molecular weight of chitosan, and the degree of deacetylation. According to the characteristics of anti-fungus and bacteria, chitosan is used for animal production through feed additives or gel injection, which improves animal performance and immune performance, and has great potential for application in disease treatment and the like. This article mainly reviewed the latest anti-microbial activity mechanisms and influencing factors of chitosan, providing a theoretical basis for the application of chitosan in animal production.

Key words: chitosan; antibacterial activity; fungi; animal production; mechanism

*Corresponding author, professor, E-mail: kjxnb@vip.sina.com (责任编辑　田艳明)